

# meso-四-[4-(Boc-苏氨酸)氨基苯基]卟啉 荧光探针对 L-色氨酸的痕量测定

蔡燕燕<sup>1</sup>, 谭卫红<sup>1</sup>, 马 艳<sup>1</sup>, 沈娟章<sup>1</sup>, 魏 琴<sup>2</sup>

(1. 中国林业科学研究院 林产化学工业研究所, 生物质化学利用国家工程实验室, 国家林业局  
林产化学工程重点开放性实验室, 江苏省生物质能源与材料重点实验室, 江苏 南京 210042;  
2. 济南大学 化学化工学院, 山东 济南 250022)

**摘要:** 利用荧光光谱方法探讨了以对称型阳离子氨基酸卟啉: meso-四-[4-(Boc-苏氨酸)氨基苯基]卟啉 (TAPP-Thr-Boc) 作为光谱探针测定 L-色氨酸的最佳条件. 实验结果表明: 双-2-乙基己基硫代琥珀酸钠 (AOT) 表面活性剂的加入能显著增加体系的灵敏度. 在最佳实验条件下, 体系荧光强度的下降程度与 L-色氨酸含量在 0.10 ~ 8.80  $\mu\text{g/mL}$  范围内呈线性关系, 检出限为 0.034  $\mu\text{g/mL}$ . 方法抗干扰能力强, 有较好的选择性和灵敏度, 用于实际样品仔猪饲料的测定, 结果满意.

**关键词:** 氨基酸卟啉; L-色氨酸; 荧光光谱法; 荧光探针  
**中图分类号:** O657.3 **文献标志码:** B

**文章编号:** 1006-3757(2013)04-0193-06

L-色氨酸是含有吡啶基的中性芳香族氨基酸. 它是人类和动物必需的 8 种氨基酸之一, 广泛地存在于自然界<sup>[1-3]</sup>. 近年来在医药、食品、饲料等行业也得到广泛的应用<sup>[4-7]</sup>. 因而, 建立测定 L-色氨酸含量的可靠方法, 将推动 L-色氨酸在饲料和医药等方面的研究. 目前测定 L-色氨酸的方法主要有高效液相色谱法<sup>[8]</sup>、毛细管电泳法<sup>[9]</sup>、化学发光法<sup>[10]</sup>等. 这些方法各具优点, 但也分别存在着耗时、灵敏度低以及仪器设备昂贵等缺点. 荧光光度法具有操作方便、灵敏度高、成本低等优点而备受关注, 但寻找选择性好、灵敏度高的荧光探针试剂也成为发展荧光光度检测方法的关键.

本文首次用氨基酸卟啉: meso-四-[4-(Boc-苏氨酸)氨基苯基]卟啉 (TAPP-Thr-Boc) 对生物小分子 L-色氨酸进行分子识别研究. TAPP-Thr-Boc 是一种对称型的阳离子氨基酸卟啉化合物, 它的结构如图 1 所示. 在生物系统中, L-色氨酸是一种常见的发光基团, 当与许多金属离子和有机小分子化合物相互作用时其荧光将会被猝灭<sup>[11]</sup>. 因此, 猝灭效应的研究将会提供蛋白质的结合位点和构象变

化<sup>[12-14]</sup>. 利用 TAPP-Thr-Boc 对 L-色氨酸进行测定的方法具有较低的检测限和较高的灵敏度, 与其他方法相比较, 当用于实际样品的测定时能获得满意的结果.

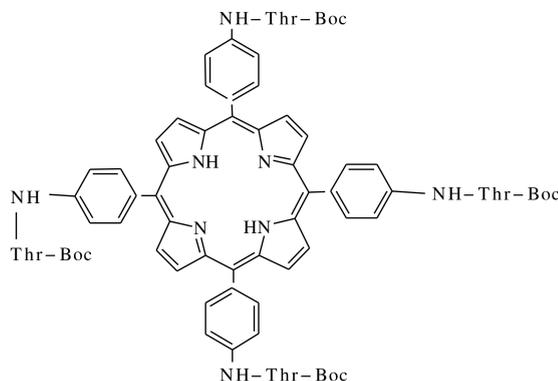


图 1 meso-四-[4-(Boc-苏氨酸)氨基苯基]卟啉的结构图  
Fig. 1 Structure of TAPP-Thr-Boc

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

LS-55 型荧光分光光度计 (美国 Perkin-Elmer

收稿日期: 2013-09-24; 修订日期: 2013-10-21.

基金项目: 国家自然科学基金 (20577016) 和山东省自然科学基金 (Y2008B44).

作者简介: 蔡燕燕 (1983-), 女, 研究实习员, 硕士, 主要从事分析化学研究工作. E-mail: caiyanyan041@163.com

通信作者: 魏琴, 女, 博士, 教授, 主要从事分析化学的教学与科研工作. E-mail: sdjndxwq@163.com

公司);PHS-3C 酸度计。

*L*-色氨酸( $\geq 99.0\%$ ,天津市光复精细化工研究所);双-2-乙基己基硫代琥珀酸钠(AOT, $\geq 96.0\%$ ,Sigma公司);氢氧化钠(96%,国药集团化学试剂有限公司);醋酸( $>99.8\%$ ,济南试剂总厂);磷酸( $\geq 85.0\%$ ,上海联试化工试剂有限公司);硼酸( $>99.5\%$ ,云岭化工厂);氯化钠( $>99.5\%$ ,天津市北方天医化学试剂厂);*meso*-四-[4-(Boc-苏氨酸)氨基苯基]卟啉样品由魏琴实验室提供(具体合成表征见参考文献[17])。实验用水均为超纯水。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 *L*-色氨酸(300 $\mu\text{g/mL}$ )

准确称取 0.030 0 g *L*-色氨酸,溶于少量超纯水中,然后转入 100 mL 容量瓶中,用超纯水定容至刻度,摇匀备用,于 4  $^{\circ}\text{C}$  下储存。

### 1.2.2 TAPP-Thr-Boc( $2.0 \times 10^{-3}$ mol/L)

称取 0.089 1 g TAPP-Thr-Boc,用二甲基甲酰胺溶解,并用二甲基甲酰胺定容于 50 mL 容量瓶中。

### 1.2.3 AOT(0.80 mg/mL)

称取 80 mg AOT 溶于少量超纯水中,转入 100 mL 容量瓶中用超纯水定容至刻度,摇匀备用。

### 1.2.4 B-R 缓冲溶液

分别配制 0.20 mol/L 的氢氧化钠和 0.04 mol/L 醋酸、磷酸、硼酸的混合酸按不同配比如配成 pH 为 1.77 ~ 13.10 的缓冲溶液。

### 1.2.5 NaCl 溶液(1.00 mol/L)

称取 5.844 5 g NaCl 溶于少量超纯水中,转入 100 mL 容量瓶并用超纯水定容至刻度,摇匀备用。

### 1.2.6 测试

于 10 mL 比色管中依次加入 0.60 mL B-R 缓冲液(pH 6.24)、0.80 mg/mL AOT 表面活性剂、一定浓度的 *L*-色氨酸、 $2.0 \times 10^{-3}$  mol/L TAPP-Thr-Boc,用超纯水稀释至 10 mL 混匀。室温放置 10 min 后,用相同条件下以无 *L*-色氨酸的试剂空白溶液做参比,于最大发射波长 658 nm 处测定体系荧光强度猝灭值  $F$ ,计算荧光猝灭差值  $\Delta F = F_0 - F$ ,激发波长为 416 nm,激发与发射的狭缝分别为 10、7.5 nm。

## 2 结果与讨论

### 2.1 TAPP-Thr-Boc 与 *L*-色氨酸结合的荧光光谱

TAPP-Thr-Boc 与体系中其他物质分别作用的发射光谱如图 2 所示。从图中可以看出:发射峰位于 658、717 nm 处,由于 717 nm 处的荧光峰强度值

很小,所以选择荧光强度值较大波位 658 nm,用于很好的观察体系的现象。从图 2 可以看出,在没有表面活性剂存在的情况下,TAPP-Thr-Boc 的荧光强度较低。加入 *L*-色氨酸后体系的荧光强度略有减小。当向体系中加入 AOT 表面活性剂,体系的荧光强度显著增强,加入 *L*-色氨酸后体系荧光强度又逐渐减小,且减小值比不加 AOT 时的大。

因此,使用 AOT 表面活性剂,选择 pH 为 6.24 的 B-R 缓冲溶液并固定卟啉的用量时,荧光发射强度随着 *L*-色氨酸浓度的增大逐渐较小,但是荧光峰的位置和形状不变。荧光强度的减小值与 *L*-色氨酸的浓度呈线性关系。据此可建立以氨基酸卟啉为荧光探针测定 *L*-色氨酸的新方法。

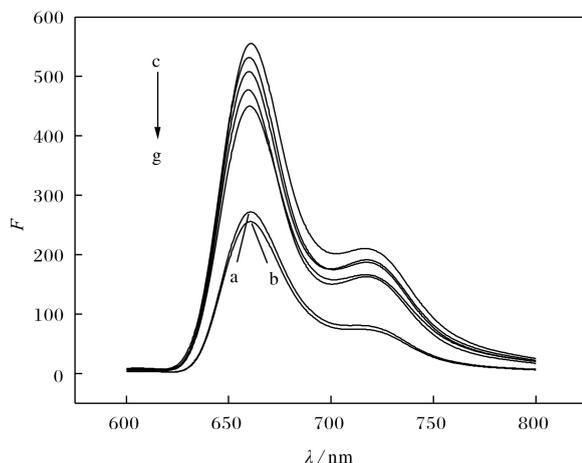


图 2 体系的荧光光谱

Fig. 2 Fluorescence spectra of system

a. B-R buffer solution + TAPP-Thr-Boc; b. B-R buffer solution + *L*-tryptophan + TAPP-Thr-Boc; c. B-R buffer solution + AOT + TAPP-Thr-Boc; d ~ g. B - R buffer solution + *L* - tryptophan ( $C_{L\text{-tryptophan}}$ : 1.5  $\mu\text{g/mL}$ , 3.0  $\mu\text{g/mL}$ , 4.5  $\mu\text{g/mL}$ , 6.0  $\mu\text{g/mL}$  in sequence) + AOT + TAPP-Thr-Boc. Conditions:  $C_{\text{TAPP-Thr-Boc}} = 2.0 \times 10^{-3}$  mol/L; pH = 6.24;  $C_{\text{AOT}} = 0.80$  mg/mL.

### 2.2 缓冲溶液酸度及用量的选择

不同种类缓冲溶液和不同酸度对于体系的荧光强度有很大的影响。根据实验方法,分别考察了 B-R、HAc-NaAc 和 Tris-HCl 缓冲溶液对测定体系的影响,可以发现 B-R 缓冲溶液效果最好,体系的荧光强度值最大。实验还研究了加入不同 pH 的 B-R 缓冲溶液时体系  $\Delta F$  的变化, pH 在 5.12 ~ 7.24 范围内体系荧光猝灭值  $\Delta F$  达最大且稳定,所以选择 pH

6.24 的 B-R 缓冲溶液控制体系的酸度。

由于体系的 pH 6.24 大于 L-色氨酸的等电点 5.89, 所以体系中 L-tryptophan 带负电荷, 因此, 带正电荷的 TAPP-Thr-Boc 可以与带负电荷的 L-色氨酸和阴离子表面活性剂 AOT 以静电引力形式相结合形成较大的 AOT-L-色氨酸-(TAPP-Thr-Boc) 复合物。随着 pH 的减小, 体系的  $\Delta F$  也变小, 这主要是因为是在强酸性条件下体系的 pH 小于 L-色氨酸的等电点 5.89, L-色氨酸带正电荷的分子越来越多, 而 TAPP-Thr-Boc 在强酸介质中发生质子化, 质子化作用导致卟啉环侧链-NH<sub>2</sub> 带正电荷。因此, AOT-(TAPP-Thr-Boc) 复合物与 L-色氨酸的结合能力越来越小。而在碱性条件下, 体系的  $\Delta F$  也相对的减小, 这是因为随着 pH 的增大, 虽然 L-色氨酸带负电荷, 但是 TAPP-Thr-Boc 在强碱介质中卟啉环侧链-NH<sub>2</sub> 带负电荷, 由于全都带负电荷, 所以 AOT-L-色氨酸-(TAPP-Thr-Boc) 复合物的结合能力越来越小。所以本实验选用 0.60 mL pH 6.24 的 B-R 缓冲溶液进行下一步的研究。

### 2.3 增敏介质及用量的选择

以前的工作研究表明<sup>[15]</sup>, 体系中引入表面活性剂能够明显的提高测定的灵敏度和稳定性。本文考察了几种具有代表性的表面活性剂对体系的增敏作用的影响, 如阴离子表面活性剂十六烷基三甲基溴化铵 (CTMAB)、阳离子表面活性剂双-2-乙基己基硫代琥珀酸钠 (AOT)、非离子表面活性剂 OP、TX-10 和 Tween-80, 见图 3。表面活性剂的增敏效果依次为: AOT > CTMAB > TX-10 > OP > Tween-80。当表面活性剂 AOT 的量在 0.6 ~ 1.0 mL 之间, 体系的  $\Delta F$  最大且较稳定。因此选择 0.80 mL 作为阳离子表面活性剂 AOT 的最佳用量。

### 2.4 显色剂用量的选择

固定 L-色氨酸的量不变, 改变体系中的卟啉的量, 考察卟啉的量对体系的影响 (见图 4)。基于灵敏度和线性范围的综合考虑, 本实验选择 0.12 mL TAPP-Thr-Boc ( $2.0 \times 10^{-3}$  mol/L) 作为最佳用量。

### 2.5 加入顺序及时间对体系稳定性的影响

改变各种试剂的加入顺序, 考察不同的加入顺序对体系荧光猝灭值  $\Delta F$  的影响, 实验最佳的加入顺序依次为: pH 6.24 B-R 缓冲液、L-色氨酸、AOT 表面活性剂、TAPP-Thr-Boc。反应在 10 min 内  $\Delta F$  达到最大, 且在 120 min 内保持稳定。本实验选择最佳放置时间为 10 min。

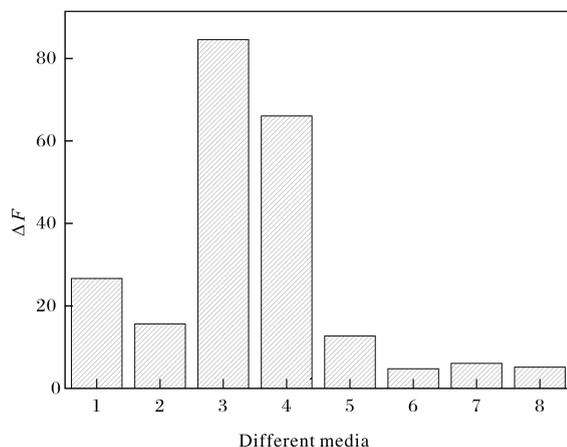


图3 不同介质对体系的影响

Fig.3 Effect of different media

Conditions: 0.6 mL pH = 6.24 BR buffer solution;  $C_{L\text{-tryptophan}} = 3.0 \mu\text{g/mL}$ ; surfactant (1. CTMAB micellar; 2. CTMAB micro-emulsion; 3. AOT micellar; 4. AOT micro-emulsion; 5. OP micellar; 6. OP micro-emulsion; 7. TX-10 micellar; 8. TX-10 micro-emulsion);  $C_{\text{TAPP-Thr-Boc}} = 2.4 \times 10^{-5}$  mol/L.

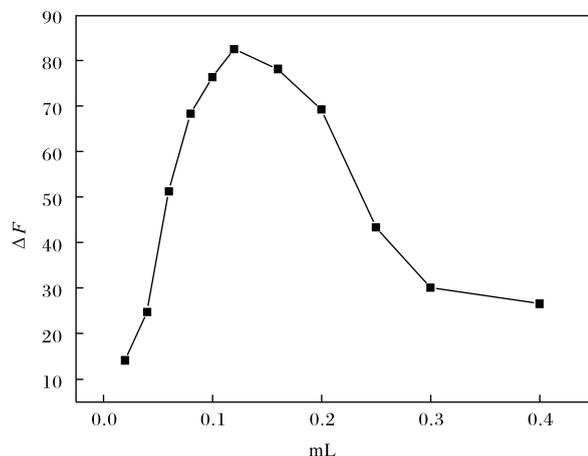


图4 TAPP-Thr-Boc 的量对体系的影响

Fig.4 Effect of amount of TAPP-Thr-Boc ( $2.0 \times 10^{-3}$  mol/L)

Condition: 0.6 mL pH = 6.24 B-R buffer solution;  $C_{L\text{-tryptophan}} = 3.0 \text{ mol/L}$ .

### 2.6 工作曲线

在最佳实验条件下, 绘制 L-色氨酸的工作曲线, 本体系检测限较低, 具有较高的灵敏度。得线性回归方程为  $\Delta F = 6.83 + 52.96\rho$  ( $\mu\text{g/mL}$ ), 线性范围 0.1 ~ 8.80  $\mu\text{g/mL}$ , 相关系数  $r$  为 0.995 8, 检测限为 0.034  $\mu\text{g/mL}$ , 可适用于 L-色氨酸的检测。

## 2.7 离子强度的影响

体系受离子强度的影响比较明显. 随着体系中 NaCl 浓度的增加, 相对荧光强度明显减小. 这可能是因为 *L*-色氨酸与 TAPP-Thr-Boc 之间主要以静电引力相结合, 所以随着离子强度的增大不利于吡

啉与 *L*-色氨酸的结合.

## 2.8 共存物质的影响

在实际样品测定中, 共存物质的干扰会影响测定结果. 在最佳条件下, 多种共存物质包括相似的氨基酸和金属离子等, 实验结果总结于表 1.

表 1 共存物质对体系测定强度的影响 (3.00  $\mu\text{g/mL}$ )  
Table 1 Effect of coexistent ions on intensity (3.00  $\mu\text{g/mL}$ )

共存物质	存在浓度/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	相对误差/ %	共存物质	存在浓度/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	相对误差/ %
淀粉	30.0	6.4	<i>DL</i> -丝氨酸	80.0	-9.7
葡萄糖	150.0	-2.5	<i>L</i> -苯丙氨酸	60.0	7.6
柠檬酸	1200.0	5.9	<i>L</i> -组氨酸	80.0	8.3
<i>L</i> -酪氨酸	60.0	9.6	$\text{Ca}^{2+}$	150.0	5.7
尿嘧啶	120.0	6.2	$\text{Cu}^{2+}$	1200.0	9.2
卵血清白蛋白	500.0	4.3	$\text{Zn}^{2+}$	1200.0	5.1
牛血清白蛋白	500.0	5.6	$\text{Fe}^{3+}$	1200.0	8.5
赖氨酸	60.0	-8.4	$\text{Mn}^{2+}$	1200.0	-4.3
苏氨酸	80.0	-9.5	$\text{K}^+$	90.0	5.6

从表 1 可以看出, 大多数物质对 *L*-色氨酸的测定干扰较小, 其相对误差均小于  $\pm 10.0\%$ , 因此, 实际样品分析不需任何预处理. 但是金属离子  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$  及赖氨酸、*L*-组氨酸等氨基酸物质对体系的干扰相对比较严重. 这主要是因为吡啉极易与部分金属离子结合, 而且氨基酸都具有相似的结构.

## 2.9 回收率实验

按标准曲线方法配制 2、4、6  $\mu\text{g/mL}$  *L*-色氨酸 3

个浓度体系并测定, 每个浓度平行测定 6 份. 根据表 2 的数据, 其回收率分别为 102%、98.7%、97.2%, 可满足 *L*-色氨酸样品的测定.

## 2.10 精密度实验

按标准曲线方法配制 3  $\mu\text{g/mL}$  *L*-色氨酸浓度体系, 用此样品进行精密度的测定, 重复测定 6 次, 结果见表 3. 由表 3 可见, 该方法测定结果重现性比较好, 符合分析测试质量控制要求.

表 2 *L*-色氨酸回收率试验

Table 2 Recovery test of *L*-tryptophan

加入量/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	测得值/ ( $\mu\text{g/mL}$ , $n=6$ )	测得平均值/ ( $\mu\text{g/mL}$ , $n=6$ )	平均回收率/ (% , $n=6$ )
2	1.98, 2.03, 2.07, 2.02, 2.04, 2.06	2.03	102
4	3.92, 3.94, 3.98, 4.01, 3.93, 3.91	3.95	98.7
6	5.87, 5.85, 5.81, 5.84, 5.83, 5.78	5.83	97.2

表 3 *L*-色氨酸精密度试验

Table 3 Precision test of *L*-tryptophan

项目	<i>L</i> -色氨酸
测定值	2.98, 3.03, 3.05, 2.99, 3.04, 3.02
平均值	3.02
RSD/ (% , $n=6$ )	2.79

## 3 样品测定

上述方法被应用于实际样品仔猪饲料(某养殖场提供的某品牌仔猪饲料)中 *L*-色氨酸的测定. 称取粉碎、混匀的仔猪饲料样品 15 mg 于小水解管中, 加入 4 mL 的 6.25 mol/L 氢氧化钠溶液, 经超声波脱气和抽真空后, 封口置于烘箱中, 于 110  $^{\circ}\text{C}$  水解

20~24 h. 取出冷却后转移到50 mL容量瓶中,加入3.5 mL的6 mol/L盐酸后用2 mol/L盐酸调节溶液至pH值为6~8并定容至刻度<sup>[16]</sup>. 在20 000 r/min下离心20 min,上清液用0.45 μm滤膜过滤,取1.00 mL上清液到10 mL的比色管中进行测定. 测

定结果见表4.

从表4可以发现相对标准偏差均低于5%,回收率为97.5%. 结果表明,这种测定L-色氨酸的方法在精确度和准确度上均有满意的结果.

表4 仔猪饲料中L-色氨酸的测定

Table 4 Determination of L-tryptophan in piglet feed

样品	测定值/ (mg/g, n=5)	平均值/ (mg/g, n=5)	相对标准偏差/ (%, n=5)	标准加入值/ (mg/g)	平均回收率/ %
仔猪饲料	2.25, 2.28, 2.26, 2.23, 2.21	2.25	1.2	2.50	97.5

## 4 结论

本文研究了TAPP-Thr-Boc测定L-色氨酸的最佳条件以及在实际样品中的应用. 基于上述结果,可以得出:(1)首次用氨基酸吡啶:meso-四-[4-(Boc-苏氨酸)氨基苯基]吡啶对生物小分子L-色氨酸进行分子识别研究,并作为探针测定L-色氨酸. 在阴离子表面活性剂AOT存在的条件下,TAPP-Thr-Boc能够猝灭L-色氨酸的荧光,建立了一种新的L-色氨酸测定方法.(2)与其他荧光光谱探针相比较,氨基酸吡啶(TAPP-Thr-Boc)作为荧光光谱探针定量测定L-色氨酸结果令人满意. 这一新体系已用于仔猪饲料中L-色氨酸的测定且获得了满意的结果.

## 参考文献:

- [1] Henry D C, Bradley E S, Carolyn M, et al. L-Tryptophan radical cation electron spin resonance studies: connecting solution-derived hyperfine coupling constants with protein spectral interpretations [J]. Journal of the American Chemical Society, 2008, 130(20): 6381-6387.
- [2] Milton J S, Robert S P. Effects of α-deuteration and of aza and thia analogs of L-tryptophan on formation of intermediates in the reaction of escherichia coli tryptophan indole-lyase [J]. Biochemistry, 1996, 35(50): 16165-16173.
- [3] Cao X L, Gad Fischer. Infrared spectral, structural, and conformational studies of zwitterionic L-tryptophan [J]. Journal of Physical Chemistry A, 1999, 103(48): 9995-10003.
- [4] Herraiz T, Galisteo J, Chamorro C. L-tryptophan

- reacts with naturally occurring and food-occurring phenolic aldehydes to give phenolic tetrahydro-β-carboline alkaloids: activity as antioxidants and free radical scavengers [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(8): 2168-2173.
- [5] Garcia A, Luis A L, Carlos J, et al. The occurrence of the human glycoconjugate C-2-α-D-mannosylpyranosyl-L-tryptophan in marine ascidians [J]. Optics Letters, 2000, 2(21): 2765-2767.
- [6] Stefanie D, Jochen B, Markus H. Tryptophan N-glucoside in fruits and fruit juices [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(10): 4913-4917.
- [7] 陈莹洁, 徐素琴, 朱霞石, 等. 环糊精增敏荧光猝灭法对粮食样品中一色氨酸的分析研究 [J]. 分析测试学报, 2009, 28(9): 1062-1065.
- [8] 陈扬, 于燕梅, 骆广生. 高效液相色谱分析法测定色氨酸对映体 [J]. 分析测试技术与仪器, 2006, 12(4): 213-217.
- [9] Wang W, Qiu B, Xu X Q, et al. Separation and determination of L-tryptophan and its metabolites by capillary micellar electrokinetic chromatography with amperometric detection [J]. Electrophoresis, 2005, 26(4-5): 903-910.
- [10] Qiu H M, Luo C N, Sun M, et al. Determination of L-tryptophan based on graphene oxide-magnetite-molecularly imprinted polymers and chemiluminescence [J]. Talanta, 2012, 98(30): 226-230.
- [11] Song L X, Bai L. Old drugs, new tricks: the effect of molecule-ion interactions on the precipitation-dissolution equilibrium of lithium carbonate in aqueous solution and on the chiral recognition of cyclodextrins to D-, L-tryptophan [J]. Journal of Physical

- Chemistry A, 2009, 113(34): 11724-11731.
- [ 12 ] 黄应平, 顾彦, 方艳芬, 等. 邻羟基苯基荧光酮荧光法测定牛血清白蛋白[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(8): 1887-1890.
- [ 13 ] Kathiravan A, Anbazhagan V, Jhonsi M A, et al. Interaction of meso - tetrakis ( *p* - sulfonatophenyl ) porphyrin ( TSPP ) with pyrimidines: A steady state and time - resolved fluorescence quenching study [ J ]. Journal of Molecular Structure, 2009, 919(1-3): 79 -82.
- [ 14 ] Oscar J G S, Arie van H, Herbert van A. Fluorescence quenching of 2 - aminopurine in dinucleotides [ J ]. Chemical Physics Letters, 2005, 402(1-3): 61-65.
- [ 15 ] Chen X, Cai Y Y, Zhao Y F, et al. Quenching and binding mechanism of the intrinsic fluorescence of bovine serum albumin by 5 - phenyl - 10, 15, 20 - tri - ( 4 - pyridyl ) - porphyrin [ J ]. Journal of Porphyrins and Phthalocyanines, 2009, 13(8-9): 933-938.
- [ 16 ] 张奇, 徐巧娣, 沈冬莲. 应用 HPLC 进行流动荧光注射测定饲料中的色氨酸[J]. 氨基酸和生物资源, 1997, 19(2): 52-55.
- [ 17 ] 陈欣. 氨基酸卟啉合成、自聚集行为及对生物分子识别的研究[D]. 济南大学, 2009: 34-40.

## Determination of Trace Amounts of *L*-tryptophan Using Tetra-[(4-Bocthreanine)-aminophenyl] Porphyrin as Fluorescence Spectral Probe

CAI Yan-yan<sup>1</sup>, TAN Wei-hong<sup>1</sup>, MA Yan<sup>1</sup>, SHEN Juan-zhang<sup>1</sup>, WEI Qin<sup>2</sup>

(1. Institute of Chemical Industry of Forestry Products, CAF, Key Laboratory of Biomass Energy and Material, Jiangsu Province, National Engineering Laboratory for Biomass Chemical Utilization, Key and Laboratory on Forest Chemical Engineering, SFA, Nanjing 210042, China;

2. School of Chemistry and Chemical Engineering, University of Jinan, Jinan 250022, China)

**Abstract:** The optimum experimental conditions for the determination of *L* - tryptophan were investigated by fluorescence spectrophotometry using tetra-[(4-Bocthreanine)-aminophenyl] porphyrin as the fluorescence spectral probe. Experiments indicated that the sensitivity of the system can be enhanced significantly by the addition of bis(2-ethylhexyl)sulfosuccinate sodium salt (AOT). Under optimum experimental conditions, the decreased of the fluorescence intensity of the system was in proportion to the concentration of *L*-tryptophan in the concentration range of 0.10 ~ 8.80  $\mu\text{g}/\text{mL}$  with a limit of detection of 0.034  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . The method has been used in the determination of samples with satisfactory results.

**Key words:** amino-acid porphyrin; *L*-tryptophan; fluorescent spectrometry; fluorescent probe

**Classifying number:** O657.3